




Deformable, hardenable or film-forming carrier containing intraoral diagnostic additives, useful for the simultaneous detection of multiple oral conditions

Patent number: DE19926728
Publication date: 2000-12-14
Inventor: GASSER OSWALD (DE); GUGGENBERGER RAINER (DE); GANGNUS BERND (DE); HAEBERLEIN INGO (DE)
Applicant: ESPE DENTAL AG (DE)
Classification:
- **International:** **A61K6/10; A61K49/00; C12Q1/04; A61K6/10; A61K49/00; C12Q1/04; (IPC1-7): A61K6/00; A61K6/10; A61K49/00; G01N33/569**
- **European:** A61K6/10; A61K49/00P4F; A61K49/00P8; C12Q1/04
Application number: DE19991026728 19990611
Priority number(s): DE19991026728 19990611

Also published as:

 WO0112237 (A1)
 EP1191946 (A1)
 AU769583 (B2)

Report a data error here

Abstract of DE19926728

A deformable, hardenable or film-forming carrier material contains additives (I) for use in location and material-specific intraoral diagnosis, is new. Independent claim are also included for the following: (1) the preparation of the product, by incorporating (I) in the carrier material; and (2) intraoral diagnostic imaging methods using the product.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



21 Aktenzeichen: 199 26 728.6
22 Anmeldetag: 11. 6. 1999
43 Offenlegungstag: 14. 12. 2000

71 Anmelder:
ESPE Dental AG, 82229 Seefeld, DE
74 Vertreter:
Abitz & Partner, 81679 München

72 Erfinder:
Gasser, Oswald, Dr., 82229 Seefeld, DE;
Guggenberger, Rainer, Dr., 82211 Herrsching, DE;
Gangnus, Bernd, Dr., 82346 Andechs, DE;
Häberlein, Ingo, Dr., 82362 Weilheim, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
zu ziehende Druckschriften:

DE 39 39 998 C2
DE 37 43 983 C2
DE 198 27 417 A1
DE 197 14 167 A1
US 49 76 951
US 44 59 277
US 43 02 439

Derwent Abstracts:
Ref. 1998-172444/16 zu JP 10033576 A;
Ref. 1992-403005/49 zu JP 04299998 A;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54 Trägermaterialien und Abbildungsverfahren für intraorale Diagnosezwecke

57 Die Erfindung betrifft verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspezifische intraorale Diagnostik enthalten, sowie Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale ort- und stoffspezifische Diagnosezwecke, bei welchen diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer solchen Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann.

Die Erfindung betrifft verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien für die intraorale Diagnostik, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe enthalten. Ferner betrifft die Erfindung Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke sowie Verfahren für die multiple sowie orts- und stoffspezifische Befunderhebung unter Verwendung der diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthaltenden härtbaren oder filmbildenden Trägermaterialien. Derartige Zusatzstoffe ermöglichen dem Fachmann die Herstellung von Abbildungen für den intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen.

Insbesondere betrifft die Erfindung dentale Abformmaterialien für die intraorale Diagnostik, welche diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe enthalten, sowie ein Verfahren zum Aufbringen diagnostisch nutzbarer Zusatzstoffe auf ausgehärtete Abformmassen, wobei die diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozessen hinweisen, geeignet sind.

Ebenso betrifft die Erfindung verformbare oder härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, insbesondere dentale Abformmaterialien, die intraorale Stoffe ortsspezifisch aufnehmen können, wobei diese aufgenommenen intraoralen Stoffe es dem Fachmann erlauben, durch Aufbringen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe auf die Trägermaterialien Testverfahren durchzuführen, die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis pathogener Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozessen hinweisen, geeignet sind.

Der orts- und stoffspezifische Nachweis von Substanzen im Mundmilieu ist ein seit langem bearbeitetes Problem. Dem Fachmann sind Single-Site-Tests bekannt (z. B. EP-A-0 304 871), die alle darauf beruhen, daß von definierten Punkten im Mundraum, beispielsweise Zahnfleischtaschen, Zahnoberflächen oder Zahnwurzelkanälen einzelne Proben genommen werden. Die anschließende Analyse dieser Proben erfolgt je nach Fragestellung mit den unterschiedlichsten Methoden, wobei vier generelle Ansätze zu unterscheiden sind:

1. Die mikrobiologische Befunderhebung erfolgt häufig nach mehrtägiger Bebrütung der Proben in geeigneten Kulturmedien, weil die ursprünglich vorhandene Zahl von Mikroorganismen für eine direkte Befunderhebung nicht ausreichend ist. Nach Vermehrung der Mikroorganismen werden die Colony-Forming-Units (CFU) gezählt und auf die in der Probe befindlichen Zahl von Mikroorganismen geschlossen (Kneist, S.; Klein, C.; Rupf, S.; Eschrich, K. Quintessenz (1999) 50, 33-43). In diesen Testsystemen können sich die in der Probe befindlichen vitalen Mikroorganismen unter optimalen Bedingungen vermehren. Das Untersuchungsergebnis zeigt damit das maximal mögliche pathogene Potential des evaluierten Mikroorganismuses an, wenn sich der durch definierte Kulturmedien selektiv angezogene Mikroorganismus im Mundraum ähnlich ungehindert vermehren könnte. Bekanntlich liegen im Mundraum aber eben gerade

nicht derartig optimale Wachstumsbedingungen vor, so daß das Testergebnis nur bedingt aussagekräftig ist.

Darüber hinaus darf nicht übersehen werden, daß durch die Bebrütung der Proben eine Kultur pathogener Mikroorganismen angelegt wird, die mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen zur Risikominimierung in der Praxis behandelt werden müssen. Eine besondere Entsorgung ist erforderlich. Neben diesen Nachteilen sind die Bebrütungsverfahren zur mikrobiologischen Befunderhebung teuer und sehr zeitaufwendig.

2. Immunologische Methoden sind ein weiterer genereller Ansatz zur mikrobiologischen Befunderhebung in Single-Site-Tests. Hierbei werden monoklonale oder polyklonale Antikörper gegen Oberflächenstrukturen oder sezernierte Substanzen von Mikroorganismen eingesetzt. Darüber hinaus können mit entsprechenden Antikörpern beispielsweise auch Entzündungsvorgänge verfolgt werden. Beispielhaft sind hierfür WO-94/12 877, US-5 665 559, WO-96/07 103, WO-96/32 647 zu nennen.

Die immunologischen Methoden gemäß Absatz 2 sind im Vergleich zu den Bebrütungsverfahren gemäß Absatz 1 spezifischer, schneller und preisgünstiger, haben aber deutliche Schwächen in der Reproduzierbarkeit, die unter anderem durch die Probennahme bedingt werden. Beispielsweise befinden sich in einem Plaquebereich nicht nur vitale, sondern auch erhebliche Mengen abgestorbener Mikroorganismen. Je nach Probennahme kann das Verhältnis zwischen toten und vitalen Mikroorganismen unterschiedlich sein. Da die Antikörper nicht zwischen vitalen und toten Mikroorganismen unterscheiden können, ergibt sich eine unvorhersagbare Schwankungsbreite in der Ableitung des vorhandenen pathogenen Potentials der evaluierten Mikroorganismen (Aass, A. M.; Preus, H. R., Zambon, J. J., Gjermo, P. Scand J. Dent Res (1994) 102, 355-360).

3. Die Methode mit der höchsten Sensitivität beruht auf der Poly-Chain-Reaction-Technologie (PCR). Geringste Mengen Mikroorganismen können mit hoher Spezifität nachgewiesen werden. Allerdings ist die PCR-Technologie zeitaufwendig, komplex, kostenintensiv und in der Beherrschung nicht trivial (Rupf, S.; Kneist, S.; Merte, K.; Eschrich, K. Eur. J. Oral. Sci (1999) 107, 75-81).

4. Es wurden ferner einige Methoden beschrieben, die biochemische Marker nutzen, um Munderkrankungen zu diagnostizieren. Eine Übersicht bietet der Beitrag von (J. Meyle, Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift (1999) 54, 73-77). Die Aussagekraft der einzelnen biochemischen Marker muß differenziert unter Berücksichtigung der klinischen Studien bewertet werden und bleibt dem Fachmann vorbehalten. Hervorzuheben ist, daß die Bestimmung der biochemischen Marker mittels Single-Site-Methoden erfolgt. Beispielhaft wird auf die Patentschrift WO-98/21 583 hingewiesen. Die hier benötigten Hilfswerkzeuge zeichnen sich dadurch aus, daß sie die zu untersuchenden Proben binden (WO-91/14 000, EP-A-0 304 871, US-A-5 725 373). Für jede Probenstelle muß jeweils ein Hilfswerkzeug eingesetzt und individuell analysiert werden.

Prinzipiell haben alle aus dem Stand der Technik bekannten Single-Site-Methoden den entscheidenden Nachteil, daß eine näherungsweise vollständige Situationsbeschreibung im Mundraum nur mit einer hohen Zahl von Einzelproben gewonnen werden kann. Zur Probennahme werden häufig Papierspitzen verwendet, die in Zahnfleischtaschen oder Wurzelkanäle eingeführt werden (US-A-5 725 373, EP-A-

0 304 871).

Es ist bekannt, daß die Parodontitisaktivität von Zahnfleischtasche zu Zahnfleischtasche in einem Patienten sehr unterschiedlich sein kann, obwohl sich die Parodontitiserreger ubiquitär in den Zahnfleischtaschen befinden. Für eine Befunderhebung müssen deshalb weit mehr als 25 Einzelproben genommen und untersucht werden, ohne sicherstellen zu können, daß nicht der eine oder andere Parodontitis-herd unberücksichtigt bleibt.

Hieraus wird prinzipiell einsichtig, daß punktuelle Bestandsaufnahmen nur unbefriedigende Situationsbeschreibungen des Mundraumes zulassen. Der hohe Zeit- und Kostenaufwand der Single-Site-Techniken ist damit nur bedingt zu rechtfertigen. Single-Site-Techniken haben sich daher in der Diagnostik des Mundraumes nicht in der breiten Anwendung durchgesetzt.

Es besteht daher seit langem ein dringendes Bedürfnis, ein einfaches und kostengünstiges Verfahren zur gleichzeitigen multiplen sowie orts- und stoffspezifischen intraoralen Befunderhebung im Mundraum zur Verfügung zu haben.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von Mitteln und Methoden zum intraoral orts- und stoffspezifischen sowie gleichzeitig multiplen Nachweis pathogener Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen.

Im Laufe der Beschreibung der Erfindung sind unter den nachzuweisenden pathogenen Substanzen und/oder Mikroorganismen oder Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozessen hinweisen, beispielsweise nachfolgend aufgeführte zu verstehen:

1. Stoffwechselprodukte von Bakterien, Viren oder Pilzen, beispielsweise Antigene, Lipide, Proteine, Peptide, Polysaccharide, DNA, RNA, Zucker, Aminosäuren, Carbonsäuren, beispielsweise Milchsäure und Propionsäure, sowie andere niedermolekulare, anionische, kationische oder neutrale Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

2. Oberflächenstrukturen von Bakterien, Viren oder Pilzen, bestehend beispielsweise aus Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anionischen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

3. Humane bzw. tierische Substanzen, die als Antwort auf Infektionen durch Bakterien, Viren oder Pilze gebildet werden, bestehend beispielsweise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anionischen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

4. Humane bzw. tierische Substanzen, die auf Munderkrankungen hinweisen, die nicht a priori auf eine Infektion durch Bakterien, Viren oder Pilze beruhen (beispielsweise Krebserkrankungen), bestehend beispielsweise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anioni-

schen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

5. Substanzen, die sich in Strukturen befinden, die als die Folge von oder die Voraussetzung für die Entstehung von Munderkrankungen, beispielsweise Plaque oder Biofilm, bekannt sind, bestehend beispielsweise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anionischen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

6. Substanzen die auf laufende Heilungsprozesse hinweisen, die als die Folge von Munderkrankungen oder Verletzungen, beispielsweise Gewebe und/oder Knochenregeneration, bekannt sind, bestehend beispielsweise aus Antikörpern, Antigenen, Lipiden, Proteinen, Peptiden, Polysacchariden, DNA, RNA, Zuckern, Aminosäuren oder anderen niedermolekularen, anionischen, kationischen oder neutralen Substanzen sowie deren Kombinationen, die sich beispielsweise aus ionischen, polaren, unpolaren, hydrophoben, kovalenten oder adhäsiven Wechselwirkungen ergeben.

Die vorstehend aufgeführten Substanzen stehen exemplarisch für solche Substanzen, die alleine oder in Kombination für diagnostische Zwecke intraoraler Erkrankungen genutzt werden können und werden nachfolgend auch als Marker-Verbindungen bezeichnet.

Erfindungsgemäß wird die beschriebene Aufgabe gelöst durch verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß sie diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspezifische intraorale Diagnose enthalten, sowie durch Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke, welche dadurch gekennzeichnet sind, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer solchen Menge aufgetragen werden, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann, und durch Verfahren für die gleichzeitige multiple sowie orts- und stoffspezifische intraorale Befunderhebung, umfassend die Schritte: Abdrucknahme mit verformbarem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial, das diagnostisch wirksame Zusatzstoffe enthält, und gegebenenfalls Auftragen weiterer diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe, oder Abdrucknahme mit verformbarem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial, das keine diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe enthält, und Auftragen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe.

Die diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe erlauben dem Fachmann die Durchführung diagnostischer Testverfahren, die zum intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweis pathogener Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder die zum intraoral orts- und stoffspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen, geeignet sind.

Überraschend ist, daß trotz der ablaufenden dynamischen Prozesse in der Mundhöhle, die einem ständigen Flüssigkeitsaustausch durch die Sekrete der Speicheldrüsen und der Sulkusflüssigkeit unterliegt, ausreichend hohe Konzentrationen von Marker-Verbindungen auf den Oberflächen der erfindungsgemäßen Trägermaterialien oder in den Trägermaterialien erhalten werden, die es gestatten, eine sichere Diagnose auch im Rahmen von Routinebehandlungen zu

realisieren.

Vorteilhaft ist es, daß durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Trägermaterialien oder durch den Einsatz des erfindungsgemäßen Verfahrens eine nahezu komplette Situationsbeschreibung des Mundraumes, unter Verzicht einer großen Anzahl von Einzelproben, sowie eine Archivierung des momentanen Krankheitsbildes möglich ist. Hierbei ist besonders die Verwendung von additionsvernetzenden Silikonabformmaterialien von Interesse, da die Abdrücke praktisch unbegrenzt haltbar sind.

Vorteilhaft ist es außerdem, daß durch die Verwendung der erfindungsgemäßen Trägermaterialien und die Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens eine nahezu komplette Situationsbeschreibung der einzelnen Zähne, unter Verzicht einer großen Anzahl von Einzelproben, sowie eine Archivierung des momentanen Krankheitsbildes möglich ist. Neben okklusalen Kauflächen und vestibulären, lingualen, koronalen, apikalen, zervikalen, gingivalen, inzistalen Bereichen eines Zahnes werden durch die Zeichnungsschärfen der Trägermaterialien auch die interproximalen Bereiche zwischen den Zähnen erfaßt.

Vorteilhaft ist es auch, daß durch die Anwendung der erfindungsgemäßen Trägermaterialien oder des erfindungsgemäßen Verfahrens das zeitaufwendige Kultivieren pathogener Mikroorganismen entfällt und somit auch das mit der Vermehrung pathogener Keime verbundene Risiko minimiert wird. Ein besonders großer Vorteil der erfindungsgemäßen Methode besteht gerade darin, daß die Nachweise auch dann gelingen, wenn die Konzentrationen der nachzuweisenden Substanzen im Abbildungsmaterial sehr gering sind.

Mit den erfindungsgemäßen Trägermaterialien gelingt auch der direkte orts- und stoffspezifische Nachweis von Mikroorganismen auf den Zähnen, ohne die auf den Trägermaterial haftenden Mikroorganismen kultivieren zu müssen. Somit entfällt beispielsweise auch der Zusatz von Nährstoffen zum Trägermaterial, wie dies in der US-A-4 976 951 beschrieben ist.

Ebenso vorteilhaft ist die Einfachheit der beschriebenen Verfahren, die bei vielen Erkrankungen eine problemlose Früherkennung mit geringem Aufwand und ohne wesentliche Mehrkosten für den Behandler und den Patienten gestattet.

Als Trägermaterial kommen allgemein beispielsweise dentale Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Polyether-Silikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokolloidbasis in Frage. Ebenso geeignet als Trägermaterial sind alle anderen bekannten Kunststoffe, beispielsweise Polyethylene, Polypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane, Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder Kautschuk. Darüber hinaus sind Hydrogele, beispielsweise auf Polyvinylpyrrolidon- oder Polyvinylalkoholbasis, als Trägermaterial geeignet. Gleichfalls geeignet für die Durchführung der erfindungsgemäßen Verfahren sind dentale Gipszubereitungen und ähnliche Massen.

Die Basis vieler Abdruckmassen bilden additionsvernetzende oder kondensationsvernetzende Silikone, Polyether-Silikone oder Polyether. Diese Materialien sind im Stand der Technik ausführlich beschrieben worden, so daß es sich erübrigt, hier näher darauf einzugehen. Additions- oder kondensationsvernetzende Silikone sind beispielsweise in der US-A-3 897 376, in der EP-B-0 231 420 sowie in der dort auf Seite 3 erwähnten US-A-4 035 453, weiterhin in der EP-A-0 480 238 (siehe insbesondere Seite 2, Zeilen 3-26) und in der EP-B-0 268 347 beschrieben. Die Offenbarung dieser Schriften soll hier durch Inbezugnahme mitumfaßt sein. Polyether-Silikone sind unter anderem beispielsweise in der DE-A-37 41 575 sowie in der DE-A-38 38 587 beschrieben,

deren Offenbarung hier ebenfalls mitumfaßt sein soll. Polyether schließlich sind beispielsweise in der DE-B-17 45 810 sowie in der DE-A-43 06 997 beschrieben, deren Offenbarung hier gleichfalls mitumfaßt sein soll.

Ein weiteres mögliches Trägermaterial kann auch eine polymerisierbare Flüssigkeit oder eine Lösung einer polymeren Substanz sein, die auf die zu untersuchenden Stellen aufgesprüht oder aufgetragen, beispielsweise aufgepinselt wird. Typischerweise handelt es sich hierbei um Lacke auf Nitrocellulosebasis mit einem flüchtigen Lösungsmittel sowie gegebenenfalls weiteren Hilfsstoffen, die zu einer festen Schicht aushärten, die nach Freisetzung des Wirkstoffes vom Substrat abgezogen werden kann. Verwendbar sind allgemein alle Polymeren, die in geeigneten leicht flüchtigen Lösungsmitteln aufgenommen werden können. Bekannt ist beispielsweise auch die Verwendung von Polyurethanen in Aceton. Geeignete filmbildende Systeme sind aus der Farben- und Lackchemie hinreichend bekannt (Standardwerk der F+L-Industrie).

Das erfindungsgemäße Trägermaterial kann zunächst die zu untersuchende Markerverbindung intraoral ortsspezifisch aufnehmen. Die Markerverbindung wird in einer anschließenden Prozedur auf bzw. im Trägermaterial orts- und stoffspezifisch nachgewiesen, quantifiziert bzw. diagnostisch evaluiert, wobei die Markerverbindung auch erst als Folge einer katalytischen, chemischen, biochemischen Reaktion gebildet werden kann. Die zu analysierende Markerverbindung kann beispielsweise über ionische, polare, unpolare oder hydrophobe Wechselwirkungen auf bzw. im Trägermaterial örtlich fixiert werden. Die Ausbildung von Mikrostrukturen und/oder Mikroräumen in den Trägermaterialien kann die Aufnahme und Fixierung der zu untersuchenden Marker-Verbindungen unterstützen.

Das Trägermaterial enthält in einer bevorzugten Ausführungsform mindestens eine Komponente oder aber zur Vereinfachung der diagnostischen Prozedur alle benötigten Komponenten des diagnostischen Testsystems. Diese diagnostischen Zusätze können beispielsweise über ionische, polare, unpolare oder hydrophobe Wechselwirkungen auf bzw. im Trägermaterial örtlich fixiert werden. Eine örtliche Fixierung von diagnostischen Zusätzen ist auch dadurch möglich, daß die diagnostischen Zusätze zuerst an hochmolekulare Träger fixiert und anschließend in die Trägermasse eingeknetet werden. Hierdurch wird die Diffusionsbewegung der diagnostischen Zusätze im Trägermaterial kontrolliert. Die Ausbildung von Mikrostrukturen und/oder Mikroräumen in den Trägermaterialien kann die Aufnahme und Fixierung der Komponenten unterstützen. Die Komponenten können in den erfindungsgemäßen Trägermaterialien frei verfügbar oder in einer anderen Phase vorliegen.

Die erfindungsgemäßen Trägermaterialien enthalten 0,0001 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 0,01 bis 1 Gew.-% diagnostische Zusätze, jedoch mindestens soviel Zusätze, daß die gewünschte Wirkung wahrgenommen werden kann. Bei der Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens müssen diagnostische Zusätze in einer solchen Menge auf Trägermaterialien aufgebracht werden, daß die gewünschte Wirkung wahrgenommen werden kann.

Erwünschte Wirkungen können alle wahrnehmbaren Signale sein. Hierunter mit eingeschlossen sind beispielsweise Farbsignale, beispielsweise fluoreszierende, UV-, VIS-, phosphoreszierende oder lumineszierende Signale, die gegebenenfalls mit speziellen Geräten detektiert werden müssen. Ebenso können Signale durch Anwendung der erfindungsgemäßen Verfahren erzeugt werden, die durch Thermographie, Spektroskopie, Chromatographie oder auch durch Analyse der Topographieänderung der Trägermaterialien wahrgenommen werden können.

Als diagnostische Zusätze sind beispielsweise Farbstoffindikatoren, Antikörper, Enzyme und alle anderen Substanzen geeignet, die dem mit der Entwicklung von diagnostischen Testsystemen vertrauten Fachmann geläufig sind.

In einer speziellen Ausführungsform der Erfindung können die diagnostischen Zusätze in mikroverkapselter Form vorliegen. In einer Mikrokapsel kann eine Vielzahl von Molekülen diagnostischer Zusatzstoffe eingeschlossen sein. Von besonderem Vorteil ist bei der Verwendung von mikroverkapselten diagnostischen Substanzen der auftretende Potenzierungseffekt.

Zur Mikroverkapselung von Wirkstoffen sind verschiedene Verfahren bekannt. Dazu gehört die Grenzflächen-Polykondensation, die an den Grenzflächen einer Dispersion aus zwei nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten stattfindet. Die Reaktionspartner dieser Polykondensation sind dabei in verschiedenen Phasen enthalten. Durch die Ausbildung der Kapselwand an der Grenzfläche der dispergierten Tröpfchen werden diese im Inneren der Kapsel eingeschlossen. In der WO-91/12 884 werden beispielsweise eine wäßrige Phase enthaltende Mikrokapseln und deren Herstellung beschrieben. Die prinzipielle Herstellung von Mikrokapseln über Grenzflächen-Polykondensation ist auch in DE-A-39 18 146 und DE-C-39 18 141 beschrieben.

Als diagnostische Zusatzstoffe, die in den Mikrokapseln eingeschlossen werden, eignen sich beispielsweise Farbstoffe oder Komponenten von Farbstoffen, die erst durch Reaktion mit mindestens einer Komponente, die nicht in denselben Mikrokapseln eingeschlossen ist, oder die aber bereits im Trägermaterial vorliegt, nachträglich auf das Trägermaterial aufgebracht wird.

Ganz allgemein können bei der Verwendung mehrkomponentiger Wirkstoffsysteme die einzelnen Komponenten getrennt voneinander, jedoch jeweils eingeschlossen in Mikrokapseln, oder auch teilweise mikroverkapselt und teilweise frei vorliegen. Selbstverständlich ist es auch möglich, bei mehr als zweikomponentigen Wirkstoffsystemen, mindestens zwei Komponenten jeweils mikroverkapselt und mindestens eine andere Komponente frei im Trägermaterial vorrätig zu halten. Essentiell ist jeweils nur, daß eine Reaktion der Wirkstoffkomponenten zum gewünschten Endprodukt durch das getrennte Vorhalten der einzelnen Komponenten solange unterbunden wird, bis ein Reaktionspartner durch eine Zerstörung der Mikrokapselwand freigesetzt wird.

Da Abformmaterialien üblicherweise zweikomponentig angeboten werden, kann es vorteilhaft sein, verschiedene Komponenten der Wirkstoffe in verschiedenen Komponenten der Abformmassen, namentlich der Basis- und der Katalysatorpaste, mikroverkapselt oder frei vorzuhalten.

Bei der Auswahl von geeigneten Trägermaterialien ist allgemein darauf zu achten, daß diese mit den diagnostischen Substanzen kompatibel sind.

Beispielsweise sollten die Trägermaterialien bei der Verwendung säurelabiler Mikrokapseln keine Pufferkapazität aufweisen, die ausreichen würde, den geringen pH-Unterschied, der durch die bakteriellen Stoffwechselprodukte hervorgerufen wird, abzupuffern. Bei der Verwendung von Fluoreszenzfarbstoffen beispielsweise sollten die Trägermaterialien selbstverständlich keine Bestandteile enthalten, die im relevanten Wellenlängenbereich selbst fluoreszieren. Die Forderung nach inerten Trägermaterialien im Sinne der diagnostischen Zielsetzung ist für den Fachmann trivial und kann vom Fachmann problemlos beachtet werden.

Die Erfindung wird nachfolgend durch Beispiele näher erläutert, ohne daß sie durch diese beschränkt werden soll.

Herstellungsbeispiel 1

Abformmasse auf Basis eines additionsvernetzenden Silikons mit diagnostischen Zusatzstoffen zur Bestimmung der Proteaseaktivität

28,2 Teile eines Vinyl-endgestoppten Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 2000 mPa · s bei 23°C, 2,5 Teile eines SiH-Gruppen-haltigen Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 60 mPa · s bei 23°C, 9,7 Teile eines Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C, 8,1 Teile einer silanisierten pyrogenen Kieselsäure, 49,4 Teile Quarzfeinstmehl sowie als diagnostische Zusatzstoffe 2,0 Teile Gly-Gly und 0,3 Teile Benzoylargininsulfanylamid werden in einem Knetzer durch Mischen zu einer homogenen Basispaste vereinigt.

Die Katalysatorpaste wird durch Vermischen von 21,6 Teilen eines Vinylendgestoppten Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 2000 mPa · s bei 23°C, 8,5 Teilen einer silanisierten pyrogenen Kieselsäure, 53,1 Teilen Quarzfeinstmehl, 13,6 Teilen eines Polydimethylsiloxans mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C und 3,4 Teilen einer Lösung von 1,3 Teilen eines Komplexes aus Platin und Divinyltetramethyldisiloxan in einem Polydimethylsiloxan mit einer Viskosität von 50 mPa · s bei 23°C hergestellt.

Herstellungsbeispiel 2

Trägermaterial zur ortsspezifischen Aufnahme von Marker-Substanzen ohne diagnostische Zusatzstoffe

Dieses auf Polyethersilikon basierende Trägermaterial wurde gemäß Herstellungsbeispiel 1 der Patentschrift DE-A-38 38 587 hergestellt.

Anwendungsbeispiel 1

Diagnose

Zur Simulation der Abdrucknahme eines stark bakterienbefallenen Gebisses werden auf die ausgehärtete Abformmasse nach Herstellungsbeispiel 1 50 µl einer 1,05 µmolar Lösung der aus der Kulturlösung von *Porphyromonas gingivalis* isolierten Proteasen Gingipain R und/oder Gingipain K gegeben. Nach einer Einwirkzeit von 15 min bei 36°C wird auf die Oberfläche des Trägermaterials eine Lösung von 1 g p-NaO₃S-C₆H₄-N₂⁺ BF₄⁻, 3 g Natriumacetat und 3 g Eisessig in 100 ml Wasser gesprüht.

An den Stellen, die mit der Gingipain R Lösung kontaktiert wurden, bildet sich eine intensiv gelbe Färbung.

Anwendungsbeispiel 2

Bestimmung der pH-Änderung

Ein nicht-verunreinigter Prüfkörper des Trägermaterials gemäß Herstellungsbeispiel 2 wird mit einer 5%-igen Milchsäurelösung zur Simulation einer mit bakteriellen Stoffwechselprodukten versetzten Oralumgebung dotiert. Nach einer Einwirkzeit von 1 bis 5 min wird der Prüfkörper mit einer pH-Indikatorlösung (Oregon green®, Molecular Probes) besprüht. Der Prüfkörper wird mit einer geeigneten Lampe bei 480 nm bestrahlt und die Fluoreszenzemission bei 500 nm beobachtet. Es gilt, je alkalischer die Umgebung, umso geringer ist die Fluoreszenzemission des pH-Indikators. Die Punkte mit Säuredotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine geringere Fluoreszenzemission zu erkennen. Zur Befunderhebung kann ein Bilddokumentations-

Anwendungsbeispiel 3

Bestimmung von Milchsäure

Bei der Herstellung des Prüfkörpers des Trägermaterials gemäß Herstellungsbeispiel 2 wird Lactatdehydrogenase als Bestandteil eines diagnostischen Systems dem Trägermaterial bis zu einer Konzentration von 100 Units/cm³ beige-mischt. Der Prüfkörper wird mit einer Lösung, bestehend aus 100 mg Calciumlactatpentahydrat, 10 mg NAD, 5 mg 3-(4,5-Dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT), 5 mg Phenazinmethosulfat (PMS) in 20 ml 50 mM Tris/HCl pH 8,0, dotiert. Die Punkte mit Milchsäuredotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine intensive Blaufärbung zu erkennen. Alternativ kann auf Redoxindikatoren verzichtet werden, wenn die Bildung von NADH durch die Fluoreszenzzunahme bei 460 nm Emission (Anregung bei 339 nm) beobachtet wird.

Anwendungsbeispiel 4

Bestimmung von Calcium

Ein Prüfkörper des Trägermaterials gemäß Herstellungsbeispiel 2 wird zur Simulation bakterieller Abbauprodukte der Zahnschmelze mit einer 1%-igen Calciumdichloridlösung dotiert. Nach einer Einwirkzeit von 1 bis 5 min wird der Prüfkörper mit einer Ca-Indikatorlösung (Oregon Green® 488 BABTA-2, Molecular Probes) besprüht. Der Prüfkörper wird mit einer geeigneten Lampe bestrahlt und die Fluoreszenzemission bei 520 nm beobachtet. Es gilt, je höher die Calciumkonzentration, umso höher die Fluoreszenzemission des Calciumindikators. Die Punkte mit Säuredotierung geben sich auf dem Prüfkörper durch eine höhere Fluoreszenzemission zu erkennen. Zur Befunderhebung kann ein Bilddokumentationssystem eingesetzt werden.

Anwendungsbeispiel 5

Immunologischer Nachweis von Matrix Metalloproteinase 9

In ein Trägermaterial gemäß Herstellungsbeispiel 2 werden kommerziell erhältliche monoklonale Antikörper gegen Matrix Metalloproteinase 9 (MMP 9) als Komponente eines diagnostischen Systems bis zu einer Konzentration von 100 µg/cm³ eingebracht. Der Prüfkörper wird mit einer Lösung von MMP 9 dotiert. Nach einer Einwirkzeit von 15 Minuten wird der Prüfkörper mit einer 1%igen Bovine-Serum-Albumin-Lösung (BSA-Lösung) gewaschen. Anschließend wird der Prüfkörper mit einer Lösung Peroxidase-gekoppelter polyklonaler Antikörper besprüht, die sich gegen andere Epitope von MMP 9 richten, welche nicht vom ersten monoklonalen Antikörper belegt sind.

Die Gewinnung von polyklonalen Antikörpern folgt den klassischen Standardprozeduren, wie sie in Hamada, S.; Slade, H. D. Microbiological Reviews (1980) 44, 331-384 und in der dort zitierten Literatur beschrieben wurden.

Der Prüfkörper wird wiederum mit 1%-iger BSA-Lösung gewaschen. Abschließend wird der Prüfkörper mit einer Standardreagentienlösung (z. B. SIGMA FAST™ OPD) mit o-Phenylendiamindichlorid und H₂O₂ als Substrate besprüht und die gelborange Farbentwicklung beobachtet. Die Farbentwicklung tritt nur an den Stellen auf, die mit MMP 9 dotiert worden sind.

Immunologischer Nachweis von Mikroorganismen

5 In ein Trägermaterial gemäß Herstellungsbeispiel 2 werden als Komponenten eines diagnostischen Systems kommerziell erhältliche Lektine (beispielsweise Concanavalin A) eingebracht, die über ihre spezifische Affinität zu Glykoproteinen Mikroorganismen zu binden vermögen (Hamada, S.; Slade, H. D. Microbiological Reviews (1980) 44, 331-384). Die Prüfkörper werden zur Simulation einer bakteriell belasteten Oralumgebung mit definierten Lösungen von Streptococcus mutans dotiert, so daß pro Dotierung eine bekannte Anzahl von Streptococcus mutans vorliegt. Nach einer Einwirkzeit von 15 Minuten wird der Prüfkörper mit einer 1%-igen BSA-Lösung gewaschen. Anschließend wird der Prüfkörper mit Peroxidase-gekoppelten polyklonalen Antikörpern besprüht, die sich gegen Streptococcus mutans-Oberflächenantigene richten.

20 In bekannten Standardprozeduren können derartige Antikörper im Kaninchen erzeugt werden.

Der Prüfkörper wird wiederum mit 1%-iger BSA-Lösung gewaschen. Abschließend wird der Prüfkörper mit einer Standardreagentienlösung (z. B. SIGMA FAST™ OPD) mit o-Phenylendiamindichlorid und H₂O₂ als Substrate besprüht und die gelborange Farbentwicklung beobachtet. Die Farbentwicklung tritt nur an den Stellen auf, die mit Streptococcus mutans dotiert worden sind.

Patentansprüche

1. Verformbares, härtpolymers oder filmbildendes Trägermaterial, **dadurch gekennzeichnet**, daß es diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe für die orts- und stoffspezifische intraorale Diagnose enthält.
2. Trägermaterial nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe zum intraoralen ortsspezifischen Nachweis von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder zum intraoralen ortsspezifischen Nachweis von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen, enthält.
3. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe in mikroverkapselter Form vorliegen.
4. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens soviel diagnostische Zusatzstoffe enthalten sind, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann.
5. Trägermaterial nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostischen Zusatzstoffe in einer Menge von 0,0001 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 0,01 bis 1 Gew.-% enthalten sind.
6. Trägermaterial zur Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß es aus einer der folgenden Gruppen ausgewählt ist:
 - (i) Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Polyethersilikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokolloidbasis,
 - (ii) Kunststoffe aus der Gruppe Polyethylene, Polypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane, Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder Kautschuk,
 - (iii) Hydrogele auf Polyvinylpyrrolidon- oder Polyvinylalkoholbasis, oder
 - (iv) dentale Gipszubereitungen.
7. Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke, da-

durch gekennzeichnet, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer solchen Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal wahrgenommen werden kann. 5

8. Verfahren zur Herstellung von Abbildungen für intraorale orts- und stoffspezifische Diagnosezwecke nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß diagnostisch nutzbare Zusatzstoffe auf verformbare, härtbare oder filmbildende Trägermaterialien, die keine diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe enthalten, in einer Menge aufgebracht werden, daß ein diagnostisches Signal in Form des intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweises von pathogenen Substanzen und/oder von Mikroorganismen oder in Form des intraoralen orts- und stoffspezifischen Nachweises von Substanzen, die auf Munderkrankungen oder Heilungsprozesse hinweisen, wahrgenommen werden kann. 15

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 oder 8, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostisch nutzbaren Zusatzstoffe in mikroverkapselter Form vorliegen. 20

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die diagnostischen Zusatzstoffe in einer Menge von 0,0001 bis 10 Gew.-%, bevorzugt 0,01 bis 1 Gew.-%, eingesetzt werden. 25

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 7 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Trägermaterial aus einer der folgenden Gruppen ausgewählt wird:

- (i) Abformmassen oder Filme auf Silikon-, Polyethersilikon-, Polyether-, Alginat- oder Hydrokolloidbasis, 30
- (ii) Kunststoffe aus der Gruppe Polyethylene, Polypropylene, Poly(meth)acrylate, Polyurethane, Polycarbonate, Polysulfid, Polyvinylchloride oder Kautschuk, 35
- (iii) Hydrogele auf Polyvinylpyrrolidon- oder Polyvinylalkoholbasis, oder
- (iv) dentale Gipszubereitungen. 40

12. Verfahren für die gleichzeitige multiple sowie orts- und stoffspezifische intraorale Befunderhebung, umfassend die Schritte: Abdrucknahme mit verformbarem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial, das diagnostisch wirksame Zusatzstoffe enthält, und gegebenenfalls Auftragen weiterer diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe, oder Abdrucknahme mit verformbarem, härtbarem oder filmbildendem Trägermaterial, das keine diagnostisch wirksamen Zusatzstoffe enthält, und Auftragen diagnostisch wirksamer Zusatzstoffe. 45

50

55

60

65